KLINISCHE UND MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR KLASSIFIKATION DER MONOCYTENLEUKÄMIE IN DIE SUBTYPEN:

MONOCYTÄR - MYELOMONOCYTÄR - MONOMYELOCYTÄR

Liane Twardzik

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546821_0013

Aus dem Klinikum Großhadern der Universität München
III.Medizinische Klinik,Hämatologie
Prof.Dr.med.D.Huhn

Klinische und morphologische Untersuchungen zur Klassifikation der Monocytenleukämie in die Subtypen:

- monocytär
- myelomonocytär
- monomyelocytär

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Liane Twardzik
aus
München

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.D.Huhn
Mitberichterstatter: Prof.Dr.W.Wilmanns
Dekan: Prof.Dr.W.Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.1982

G E W I D M E T I N D A N K B A R K E I T

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
ABKÜRZUNGEN	3
1. EINLEITUNG	4
1.1. Definitionen	4
1.1.1. Leukämie-Monocytenleukämie	4
1.1.2. Monocyt	6
1.2. Fragestellung	7
2. PATIENTENGUT UND METHODEN	9
2.1. Patienten	9
2.2. Methodik	9
2.2.1. Lichtmikroskopische Morphologie-Cytologie	9
2.2.2. Lichtmikroskopische Cytochemie	9
2.2.2.1. Saure Phosphatase	9
2.2.2.2. Perjodsäure-Schiff's Reagenz	12
2.2.2.3. Peroxydase	13
2.2.2.4. Naphthol-AS-Azetat-Esterase	13
2.2.3. Elektronenmikroskopische Morphologie	14
2.2.4. Elektronenmikroskopische Cytochemie	15
2.2.4.1. Saure Phosphatase	15
2.2.4.2. Peroxydase	15
2.2.5. Statistische Methode	16
2.3. Einteilung der Monocytenleukämie in 3 Formen	16

Seite

3.ERGEBNISSE 18

3.1.Klinische Befunde 18
3.2.Laborbefunde 21
3.3.Cytochemische und morphologische Befunde 25
3.3.1.Lichtmikroskopisch 25
3.3.2.Elektronenmikroskopische Feinstruktur 27
3.4.Krankheitsverlauf 32

4.DISKUSSION 35

4.1.Herkunft der Monocyten 35
4.2.Klassifizierung der Monocytenleukämie 36
4.2.1.bezüglich Morphologie und Cytochemie 36
4.2.2.bezüglich der Verlaufsform 38
4.3.Morphologie und Funktion der leukämischen Monocyten 38
4.3.1.Morphologie 38
4.3.2.Funktion 40
4.4.Symptome,Todesursache und Prognose 40
4.4.1.Symptome 40
4.4.2.Todesursache 42
4.4.3.Prognose 42

5.ZUSAMMENFASSUNG 44

6.LITERATUR 48

ABKÜRZUNGEN:

Abb.	=	Abbildung
Acetat-P.	=	Acetat-Puffer
Alkohol abs.p.a.	=	Alkohol absolutus pro analysi
Aqua dest.	=	Aqua destillata
ca	=	circa
d	=	Durchmesser
E	=	Erwachsene
et al.	=	et alii (und andere)
GSF	=	Gesellschaft für Strahlen-und Umweltforschung
h	=	hora (Stunde)
Hb	=	Hämoglobin
HCl	=	Salzsäure
K	=	Kinder
leuk.Zellen	=	leukämische Zellen
LK	=	Lymphknoten
m	=	männlich
Min.	=	Minuten
n	=	Anzahl
n	=	normal
N-AS-E	=	Naphthol-AS-Acetat Esterase
Na-Cacodylat-P.	=	Natrium-Cacodylat-Puffer
NaF	=	Natriumflourid
PAS	=	Perjodsäure Schiff's Reagenz
POX	=	Peroxydase
RES	=	Retikuloendotheliales System
Sek.	=	Sekunden
Std.	=	Stunden
Tab.	=	Tabelle
w	=	weiblich
ZNS	=	Zentrales Nervensystem

1.EINLEITUNG

1.1.Definitionen

1.1.1.Leukämie-Monocytenleukämie

Leukämie ist die maligne generalisierte Erkrankung des hämatopoetischen bzw. lymphatischen Gewebes mit Akkumulation einer Zellpopulation in Blut,Milz, Lymphknoten,Leber und Knochenmark.Wir unterscheiden je nach betroffenem Zellsystem die myeloische von der lymphatischen Leukämie.

Bei der myeloischen Leukose ist eine gemeinsame Vorläuferzelle erkrankt.Dies ist gemäß der monophyletischen Theorie der Blutbildung(21,33) eine pluripotente Stammzelle,aus der sich die verschiedenen determinierten Stammzellen der Hämatopoese entwickeln,nämlich Vorläufer von Erythrocyten, Granulocyten,Monocyten und Thrombocyten.

Eine dieser Zellreihen proliferiert abnorm und akkumuliert in Blut und Knochenmark.Demnach wird die myeloische Leukose eingeteilt in die Formen: myeloblastär-promyelocytär-myelocytär-promonocytär/monocytär-erythroblastär-megakaryocytär. Zwar steht eine Zellreihe infolge eklatanter qualitativer und quantitativer Veränderungen meist im Vordergrund,doch es können auch Mischformen,bei denen zwei Zellpopulationen gleichzeitig entarten und proliferieren,beobachtet werden,und ebenso zusätzliche Funktionsverluste anderer Zellreihen,wie z.B.eine

ineffektive Thrombo-oder Erythropoese.

Die Monocytenleukämie ist also eine Form der myeloischen Leukose,der "eine Wucherung der Blutmonocyten zugrunde liegt."(36) Neben dieser reinen Form der akuten Monocytenleukämie,die foudroyant verläuft,und bei der als leukämische Zellen morphologisch und cytochemisch ausschließlich Monocyten identifiziert werden, gibt es noch einige Sonderformen,wie z.B. die akute,subakute und chronische myelomonocytäre,sowie die chronische monocytäre Leukämie.

Ein kurzer Abriß zur Geschichte der Monocytenleukämie soll Einblick geben in Diskussionen und Theorien bezüglich der Nomenklatur,Klassifikation und Pathogenese der Monocytenleukämie und ihrer Mischformen.

1913 Schilling beschreibt als erster die Monocytenleukämie.Er stellt die These auf,die Monocytenpopulation komme von der Proliferation des RES .

1931 Naegeli beschreibt die Monocytenleukämie als Variante der akuten myeloischen Leukämie.

1969 Osgood erklärt,die akute Leukämie mit pathologischen Zellen der monocytären als auch der myeloischen Reihe käme zustande,indem die reine Proliferation der malignen Monoblastenzellinie mit der reaktiven Proliferation der myeloischen Zellreihe beantwortet werde.

1971 Bennet prägt den Begriff der myelomonocytären Leukämie.

1971 Saarni & Linman berichten von der myelomonocytären Leukämie mit protrahiertem Verlauf.

1973 Metcalf findet,daß die Monocyten und Granulocyten eine gemeinsame Stammzelle haben.(12)

Metcalfs Theorie wurde in verschiedenen Arbeiten bestätigt (17,36,37) und wird als Erklärung für das Zustandekommen von Mischformen der Leukämien des monocytären und myeloischen Typs akzeptiert.

1.1.2.Monocyt

Durch Untersuchungen der Ultrastruktur mit Elektronenmikroskop und cytochemischen Techniken läßt sich der Monocyt in seinen verschiedenen Entwicklungsstufen identifizieren. Die Monocytopoese,die durch FIM(=Factor increasing monocytopoesis) reguliert wird (39),erfolgt in folgenden Schritten (21,33):

CFU(colony forming units) pluripotente Stammzelle → progenitor cells z.B.Monoblast
↓
Promonocyt
↓
Monocyt (36-104 h im Blut)
↓
Makrophage im Gewebe ← manchmal Epitheloidzelle oder mehrkernige Riesenzelle

Der Blutmonocyt wandert,wie aus der Darstellung hervorgeht, im Fall einer Entzündungsreaktion in das Gewebe,wo er sich zum phagocytierenden Makrophagen umwandelt,bzw. zur

Epitheloidzelle oder mehrkernigen Riesenzelle.In jeder Entwicklungsphase wird vom Monocyten spezifische Granula gebildet,die bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen zu Identifikation beitragen.

Die unterschiedliche Cytochemie des Monocyten in seinen verschiedenen Entwicklungsphasen vom Monoblast über den Promonocyt zum reifen Monocyt erleichtert seine Identifizierung.(9,36) Die Peroxydase ist in der Granula des Monoblast nicht,im Promonocyt in starker Aktivität,im Monocyt in geringem Maß nachweisbar.Die Saure Phosphatase ist im Monoblast und Monocyt stark positiv,im Promonocyt nur in Spuren in ca 20% der Zellen zu beobachten.

Gemeinsam ist dem Monoblast,Promonocyt und Monocyt die starke Aktivität der N-AS-E,die bei der monocytären Zellreihe im Gegensatz zu den myelocytären Zellen stark NaF-hemmbar ist.

1.2.Fragestellung

1974 wurde auf einer Arbeitstagung in Paris durch eine französisch-amerikanisch-britische Arbeitsgruppe (FAB) eine einheitliche Klassifizierung akuter Leukämien vorgeschlagen,die 1976 publiziert wurde.(7)

Diese Einteilung der Leukämien hat weite Verbreitung gefunden.Bezüglich der unreifzelligen myeloischen Leukämien werden unterschieden:

M 1 = Myeloblastäre Leukämie ohne Reifung,
M 2 = Myeloblastäre Leukämie mit Reifung,
M 3 = Hypergranuläre promyelocytäre Leukämie,
M 4 = Myelomonocytäre Leukämie,
M 5 = Monocytäre Leukämie,
M 6 = Erythroleukämie.

2 Gruppen monocytärer Leukämien werden also unterschieden, nämlich 1.) eine gemischte myelomonocytäre Leukämie, die durch eine sowohl granulocytäre sowie auch eine monocytäre Differenzierung charakterisiert ist;

2.) eine rein monocytäre Leukämie, bei welcher nahezu alle leukämischen Zellen zu Monoblasten, Promonocyten und Monocyten differenziert sind.

(Einzelheiten siehe unter "Material und Methodik"!)

An unserem Patientengut, das etwa 40 Fälle morphologisch und cytochemisch, z.T. elektronenmikroskopisch gesicherter Monocytenleukämien umfaßt, sollte retrospektiv geprüft werden, ob den in der FAB-Klassifizierung vorgeschlagenen Untergruppen monocytärer Leukämien unterschiedliche hämatologische und klinische Krankheitsbilder zuzuordnen sind. Die Gruppe der myelomonocytären Leukämien wurde hierfür zusätzlich unterteilt in folgende Sonderformen:

1. Myelomonocytäre Form = Leukämische Zellen, die einerseits in Richtung monocytäre Zellreihe, andererseits in Richtung granulocytäre Zellreihe differenziert sind, werden im Knochenmark nebeneinander beobachtet;
2. Monomyelocytäre Zwischenform = Die leukämischen Blasten stellen eine Zwischenform zwischen granulocytärer und monocytärer Zellreihe dar; die große Mehrzahl der Blasten einzelner Patienten zeigt somit Merkmale sowohl der monocytären sowie der granulocytären Zellreihe.

2.PATIENTENGUT UND METHODEN

2.1.Patienten

Das nichtausgewählte Patientengut wurde im Zeitraum von 1970-80 im Institut für Hämatologie der GSF (Labor Prof.Dr.Huhn) diagnostiziert und in verschiedenen Münchner medizinischen und pädiatrischen Kliniken behandelt.Blut-bzw. Knochenmarksausstriche von 49 Patienten standen meinen Untersuchungen zur Verfügung,von denen in 38 Fällen retrospektiv Daten bezüglich verschiedener klinischer Parameter und Laborwerte ausgewertet werden konnten.(siehe Tabellen 1 a),b),c))

2.2.Methodik

2.2.1.Lichtmikroskopische Morphologie-Cytologie

Ausstriche von Blut und von Knochenmark,das durch Sternalpunktion gewonnen wurde,wurden nach Pappenheim panoptisch gefärbt.

2.2.2.Lichtmikroskopische Cytochemie

2.2.2.1.Saure Phosphatase (4)

- Fixierung der luftgetrockneten Ausstriche in Formalin-$CaCl_2$ (10Min.,pH 7.0, 4° C);
- Wässern 1-2Min.,lufttrocknen;
- Inkubation (3Std.,pH 5.0, 37° C) in folgenden Medien:

  Stammlösung A (Puffer):Michaelis Veronal-Azetat-Puffer (1/7 molar;14,1 ml);

  Stammlösung B (Substrat):20mg Naphthol-AS-Bi-

Tab.1a)Patientengut (n=19)
Zusammenstellung der wichtigsten klinischen Befunde der Fälle mit akuter Leukämie der monocytären Form
(Km=Knochenmark,leuk.Zellen=leukämische Zellen,Hb= Hämoglobin)

	Initialen, Geschlecht m.=männlich w.=weiblich	Alter Jahre	BLUTBILD Hb g/ 100ml	Thrombo-cyten $10^3/mm^3$	Leuko-cyten $10^3/mm^3$	leuk. Zellen %	Km leuk. Zellen %	Krankheitsdauer Monate Diagnose-Tod
1	M.D. m.	79	-	-	-	56	-	24
2	J.E. m.	63	5,1	81	11,5	80	39	2
3	E.G. w.	65	8,6	100	4,8	86	-	26
4	M.H. w.	30	8,9	45	175	80	87	2
5	M.J. w.	59	8,7	7	20,8	80	-	3
6	L.K. m.	70	9,2	27	88	88	-	<1
7	K.K. w.	54	8,0	26	46	77	-	26
8	M.M. w.	22	11,5	30	39	67	70	1
9	M.M. m.	1	9,4	111	-	92	-	1
10	N.M. m.	13	13,8	-	-	25	80	6
11	A.R. w.	46	10,5	23	38,6	70	80	12
12	M.S. m.	69	9,5	114	1,7	44	-	-
13	J.W. w.	17	9,1	39	17,8	34	50	4
14	S.W. m.	8	12,1	59	39	-	79	22
15	M.R. w.	13	7,3	56	0,8	-	88	11
16	B.H. w.	80	7,5	102	1.9	18	33	2
17	A.K. m.	65	7,7	462	15,7	82	57	1
18	E.M. w.	69	12,5	140	18,9	75	89	5
19	S.S. w.	64	11	35	49	30	19	<1

Tab.1b)Patientengut(n=11)
Zusammenstellung der wichtigsten klinischen Befunde der Fälle mit akuter Leukämie der myelomonocytären Form
(Km=Knochenmark,leuk.Zellen=leukämische Zellen,Hb=Hämoglobin)

	Initialen, Geschlecht m.=männlich w.=weiblich	Alter Jahre	BLUTBILD Hb g/ 100ml	Thrombo-cyten $10^3/mm^3$	Leuko-cyten $10^3/mm^3$	leuk. Zellen %	Km leuk. Zellen %	Krankheits-dauer Monate Diagnose-Tod
1	C.D. m.	8	9,4	14	24,6	46	76	24
2	P.H. m.	74	11,8	82	15,2	22	53	-
3	A.R. m.	60	15,5	98	8,1	49	23	-
4	E.S. m.	59	8	178	-	33	57	7
5	J.P. m.	42	6,4	46	1,7	-	65,5	< 1
6	A.B. m.	51	11	0,1	3,6	69	60	1
7	R.K. w.	40	-	-	-	-	66	22
8	A.R. w.	20	8,2	45	86	100	70	5
9	M.F. w.	12	8,7	22	-	-	78	13
10	M.D. w.	17	7,7	9	1,9	-	70	32
11	T.W. w.	41	5,2	12	23,5	90	90	15

Tab.1c)Patientengut(n=8)
Zusammenstellung der wichtigsten klinischen Befunde der Fälle mit akuter Leukämie der monomyelocytären Form
(Km=Knochenmark,Leuk.Zellen=leukämische Zellen,Hb=Hämoglobin)

	Initialen, Geschlecht m.=männlich w.=weiblich	Alter Jahre	BLUTBILD Hb g/ 100ml	Thrombo-cyten 10/mm	Leuko-cyten 10/mm	leuk. Zellen %	Km leuk. Zellen %	Krankheits dauer Monate Diagnose-Tod
1	U.B. w.	12	7,7	22	43,8	40	93	< 1
2	M.H. m.	2	7,0	8	99	75	85	8
3	E.E. w.	53	7,5	35	41	-	60	13
4	M.B. m.	64	10,1	20	14,1	45	75	15
5	E.L. w.	35	7,4	53	13,8	71	37	24
6	B. m.	54	15,5	40	80,3	52	75	13
7	J.K. w.	45	8,1	227	58	77	80	8
8	K.B. m.	67	9,5	7	4,6	14,5	-	3

Phosphat (Firma Sigma USA),gelöst in
2ml N,N,Dimethylformamid.(1,8ml)
Stammlösungen C und D (Hexazonium-p-Anilin):
200 mg Natriumnitrit in 5 ml Aqua dest. gelöst
und 2 g Pararosanilin in 10 ml 37%iger Salzsäure
+ 40 ml Aqua dest. gelöst (jeweils 1,5 ml).

Die Stammlösungen A-D werden mit 18,9 ml Aqua dest. verdünnt und mit 1n HCl filtriert.

- Wässern nach der Inkubation 1-2 Min.,
- Kernfärbung mit Mayer's saurem Hämalaun ca 15Min.,
- Bläuen in Leitungswasser 10-15 Min.,
- Eindecken in Glyceringelatine.

2.2.2.2.Perjodsäure-Schiff's-Reagenz (5)

- Fixierung der luftgetrockneten Ausstriche in Formalindampf (10 Min. bei Zimmertemperatur);
- Oxydation 10 Min. in Perjodsäure;

  Perjodsäurelösung: 800mg Perjodsäure in 70 ml Alkohol abs.p.a.lösen, 20 ml Natriumacetat 0,1 molar und 10 ml Aqua dest. dazugeben.
- Spülen in 70%igem Alkohol;
- Hotchkiss reduzierende Lösung 1 Min. ;

  Hotchkiss reduzierende Lösung:
  2g Kaliumjodid,2g Natriumthiosulfat, 60 ml Alkohol abs.p.a.,40 ml Aqua dest., 2 ml 1n HCl.
- Schiff'sches Reagenz nach Graumann 10 Min.;

- Waschen in fließendem Wasser 10 Min.;
- Kernfärbung mit Mayer's saurem Hämalaun 15 Min.;
- Bläuen in Leitungswasser ca 10-15 Min.;
- Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe (jeweils 15-30 Sekunden);
- Einbettung in Eukitt.

2.2.2.3. Peroxydase (35)

- Fixierung der frischen luftgetrockneten Ausstriche 30 Sek. bei Zimmertemperatur in Äthanol-Formalin (9:1);
- Wässern 1-2 Min.;
- Lufttrocknen;
- Inkubation (30 Min., pH 7,4; Zimmertemperatur) in folgendem Medium:

  10mg 3-Amino-9-Äthylkarbazol, gelöst in 6 ml Dimethylsulfoxyd, wurden mit 50 ml (0,1 molar) Michaelispuffer und 0,5 ml Wasserstoffsuperoxyd (0,3%) durchmischt und mit Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt;
- Wässern 1-2 Min.;
- Kernfärbung mit Mayer's saurem Hämalaun ca 15 Min.;
- Bläuen in Leitungswasser ca 10-15 Min.;
- Eindecken in Glyceringelatine.

2.2.2.4. Naphthol-AS-Azetat-Esterase (24)

- Fixierung der luftgetrockneten Ausstriche 5 Min. in Formalindampf;
- Wässern 1-2 Min.;
- Lufttrocknen;

- Inkubation in folgendem Medium (70 Min.,pH6,8-7,0; Zimmertemperatur):

  40 ml Phosphatpuffer, 0,8 ml Propylenglykol(als Stabilisator), 0,75 ml Substratlösung (aus 8mg N-AS-Azetat,gelöst in 1,5 ml Azeton), 80mg Echtblausalz BB;

- Wässern 1-2 Min.,lufttrocknen;
- Kernfärbung nach Feulgen;
- Wässern 10 Min.;
- Einbetten in Glyceringelatine.

Natriumflourid-Hemmung:Inkubation wie oben, im Phosphatpuffer 1,5 mg NaF/ml Puffer lösen.

2.2.3.Elektronenmikroskopische Morphologie(14,15,32,34,38)

Bei 7 Patienten wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt.

- Entnahme:Peripheres Blut wurde mit Heparin versetzt,Knochenmarksbröckchen erhielten keinen Antikoagulantienzusatz.
- Zellisolierung:
  a)peripheres Blut z.T. durch Zentrifugation, z.T. über Ficoll-Paque(d 1,077 Deutsche Pharmacia);
  b)Knochenmarksbröckchen durch Perlongaze filtriert oder Knochenmarksblut über Ficoll-Paque.
- Fixierung:(2 Std. 4° C) in Glutaraldehyd 1,5%, Na-Cacodylat-Puffer 0,1 molar,pH 7,4, 1% Saccharose;

- Waschen 3x bei 4°C in:Na-Cacodylat-P. 0,1 molar, pH 7,4 , 7% Saccharose;
- Zentrifugation: Mikrofuge Beckman 5 Min.;
- Postfixierung in: 1%iger Osmiumsäurelösung in Veronal-Acetat-P.,pH 7,4 , unter Zusatz von 5%iger Saccharose (1Std., 4°C);
- Dehydrierung über:aufsteigende Alkoholreihe und Propylenoxid;
- Einbettung in: Maraglas (Firma Serva);
- Anfertigung der Schnitte: mit Ultramikrotom-LKB;
- Kontrastierung mit: 1%igem Uranylacetat und Bleihydroxid;
- Auswertung: im Elmiskop IA (Siemens).

2.2.4.Elektronenmikroskopische Cytochemie (2)

- Präparation:(Entnahme,Zellisolierung,Fixierung und Waschen) siehe Seite 14;
- Inkubation:(3) Resuspension der Zellen durch vorsichtiges Pipettieren,Inkubation unter ständigem Schütteln.

2.2.4.1.Saure Phosphatase:(18)

30 Min., 37°C,pH 5

10ml 0,1 molarer Tris-Maleat-Puffer,

10ml Aqua dest.,10ml Na-ß-Glycerophosphat 1,25 %,

20ml 0,2%iges Bleinitrat;

2.2.4.2.Peroxydase:(5)

30 Min., 25°C,pH 7,6

10ml 0,05 molarer Tris-Puffer,

5mg 3,3-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid,
0,1 ml 1% H_2O_2, 5% Saccharose;
Kontrolle:bei Saurer Phosphatase ohne ß-Glycerophosphat mit 0,2 n NaOH auf pH 5,0 bringen,
bei Peroxydase ohne Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid;
Nachbehandlung:

- Waschen:in Veronal-Acetat-P.,pH 7,4,
  7,5% Saccharose, 3x bei 4° C durch Zentrifugieren und Resuspension;
- Postfixierung nach Pelade:siehe Seite Seite 15;
- Kontrastierung in: 1% Uranylacetat in 0,05 molarem Veronalacetatpuffer, pH 7,4 , 4% Saccharose,
  1 Std. bei Zimmertemperatur;
- Dehydrierung,Einbettung,Schnittanfertigung,Nachkontrastierung,Auswertung:Siehe Seite 15.

2.2.5.Statistische Methode: Student's t-Test (22,26)

Die Unterschiede der verschiedenen Durchschnittswerte von Alter,Hämoglobin,Thrombocyten,Leukocyten und Krankheitsdauer wurden durch Student's t-Test für ungepaarte Werte auf ihre Signifikanz geprüft.

2.3.Einteilung der Monocytenleukämie in 3 Formen

Die verschiedene Cytochemie und Morphologie der leukämischen Zellen in Blut bzw. Knochenmark ließ die Einteilung in die Gruppen "monocytär" (n=25), "myelomonocytär" (n=14) und "monomyelocytär" (n=10) zu.

Es wurde folgendermaßen definiert:

Monocytäre Form:

alle leukämischen Zellen mit hohem Gehalt an NaF-sensitiver N-AS-E, sehr geringe Aktivität von Peroxydase.

Die cytochemische Anfärbbarkeit entspricht der normaler Monocyten.

Myelomonocytäre Form:

ca 50% der leukämischen Zellen mit starker Aktivität von N-AS-E und Peroxydase negativ oder in Spuren positiv;

25-50% der leukämischen Zellen stark Peroxydase positiv und nur gering N-AS-E positiv.

Die myelomonocytäre Form ist also eine Mischform, die z.T. aus monocytär, z.T. aus granulocytär differenzierten Zellen besteht.

Monomyelocytäre Form:

alle leukämischen Zellen mit starker N-AS-E - und Peroxydase-Aktivität.

Die Zellen der monomyelocytären Form stehen also cytochemisch und auch morphologisch zwischen der monocytären und granulocytären Zellreihe und kommen physiologischerweise nicht vor.

3. ERGEBNISSE

3.1. Klinische Befunde

Alter, Geschlechtsverteilung und klinische Symptome der Patienten mit monocytärer, myelomonocytärer und monomyelocytärer Form der Monocytenleukämie können der Tabelle 2 und den Abbildungen 5,6 a)+b) entnommen werden.

Das Durchschnittsalter der Patienten bei Diagnosestellung beträgt 42 Jahre, das Durchschnittsalter der monocytären, myelomonocytären und monomyelocytären Form unterscheidet sich nicht signifikant voneinander. Der jüngste Patient war 1, der älteste 80 Jahre alt. Häufigkeitsgipfel zeichneten sich in der Kindheit und im höheren Alter ab, wobei die rein monocytäre Form eine besonders auffällige Häufung an Fällen im 7. Lebensjahrzehnt zeigt.

Die Geschlechtsverteilung ist ausgeglichen. Das weibliche Geschlecht überwiegt insgesamt leicht mit 20 : 18.

Als Symptome der Erkrankung wurde von vielen Patienten über plötzlichen Leistungsabfall, Gewichtsverlust, vegetative Störungen, Appetitlosigkeit, Blutungen und Gelenkschmerzen geklagt.

Klinische Befunde (Tab. 2) Durch die klinische Untersuchung konnten Milz- und Lebervergrößerung, Hautinfiltrate, Lymphknotenbeteiligung und Gingivahyperplasie festgestellt werden. Die Abb. 6a) verdeutlicht, daß bei Kindern (15 Jahre und jünger) im Vergleich zu

Tab.2 Vergleich zwischen den 3 Subtypen der akuten Monocytenleukämie bezüglich Klinik und Prognose (LK=Lymphknoten)

Gruppe	n	Alter, Geschlecht: Durchschnittsalter	♂:♀	Klinische Manifestationen: Milz	Leber	LK	Haut	Gingiva	Verlauf: mittl. Überlebenszeit in Monaten vom Diagnosedatum
monocytär	19	47 (1-80)	8:11	9	8	6	3	3	8,4 (2Wochen-29Monate) 2 leben noch Juli 1980
myelomonocytär	11	39 (8-74)	6:5	4	3	4	-	2	13,3 (10Tage-32Monate) 3 leben noch Juli 1980
monomyelocytär	8	42 (2-67)	4:4	6	3	6	1	3	10,6 (3Tage-24Monate) 3 leben noch Juli 1980

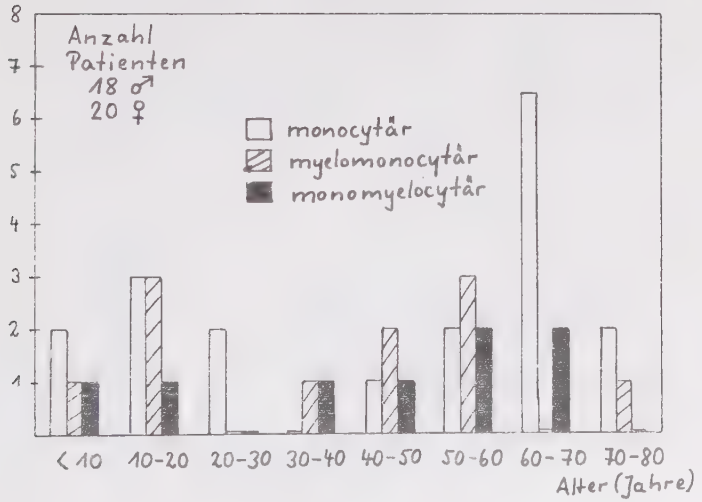

Abb.5 Lebensalter bei Erkrankung im Vergleich zwischen der monocytären, myelomonocytären und monomyelocytären Form

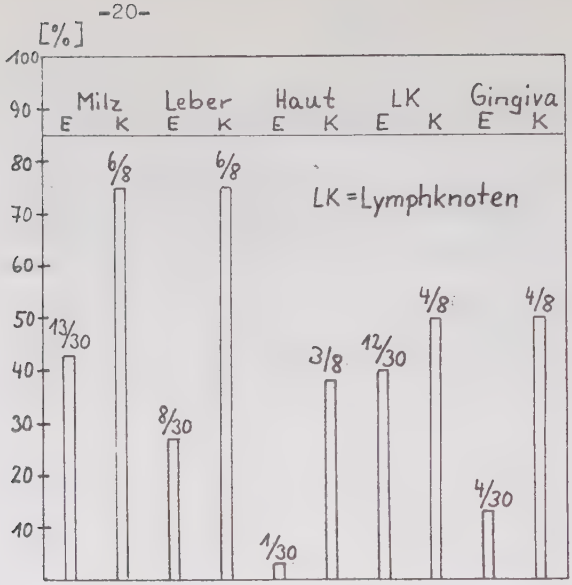

Abb.6a Häufigkeit der Organbeteiligung bei 30Erwachsenen(E) und 8Kindern (K:0-15Jahre) ohne Unterteilung in die Subtypen der Monocytenleukämie

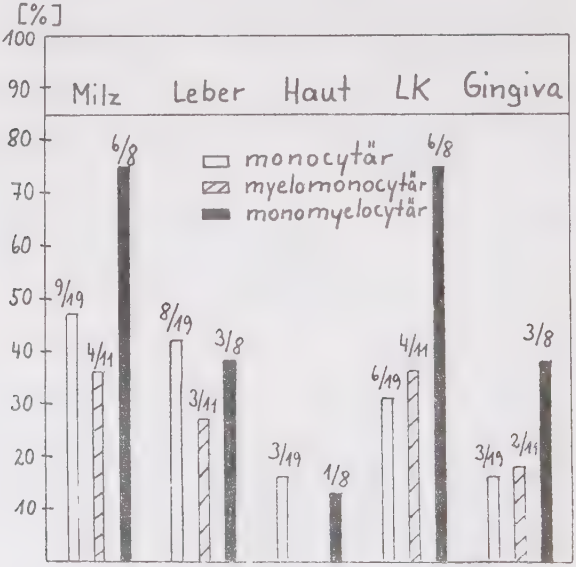

Abb.6b Häufigkeit der Organbeteiligung bei 30Erwachsenen und 8Kindern im Vergleich zwischen der monocytären (n=19), myelomonocytären(n=11) und monomyelocytären Form (n=8)

Erwachsenen Hepato-und Splenomegalie häufiger beobachtet wird.-Hingegen unterscheiden sich die morphologischen Subtypen nicht im Muster des Organbefalls; allenfalls zeigt der monomyelocytäre Subtyp eine Tendenz zu häufigerem Befall von Milz,Lymphknoten und Gingiva (Abb.6b).

In jeweils einem Fall konnte bei der myelomonocytären und monomyelocytären Form eine Meningiosis leukämica beobachtet werden,und in einem weiteren Fall der myelomonocytären Form entwickelte sich im Laufe der Krankheit eine Peronäuslähmung.

3.2.Laborbefunde

Die Fälle der monocytären,myelomonocytären und monomyelocytären Formen unterscheiden sich nicht in ihren durchschnittlichen Laborparametern in Blut und Knochenmark.Der t-Test für ungepaarte Werte zeigte,daß die Unterschiede nicht signifikant sind.Die verschiedenen Mittelwerte von Hämoglobin,Thrombocyten,Leukocyten, leukämischen Zellen in Blut und Knochenmark und den Erythrocytenvorstufen im Knochenmark sind in der Tab.3 zusammengestellt.

Insgesamt konnte ein stark erniedrigtes Hämoglobin mit Mittelwerten von 9,3 g% bei Erwachsenen und 9,4 g% bei Kindern (15 Jahre und jünger) festgestellt werden. In je einem Fall der monocytären und myelomonocytären Form sank das Hämoglobin unter den kritischen Wert von 6 g%.

Die mittlere Thrombocytenzahl lag bei den Kindern mit $42x10^3/mm^3$ deutlich niedriger als bei den Erwachsenen mit $74x10^3/mm^3$, doch ein Vergleich der tatsächlich relevanten Thrombocytopenie mit Definition Thrombocyten < 100 000/mm^3 ergab laut Abb.7 a), daß darin nur ein geringfügiger Unterschied zwischen Erwachsenen und Kindern besteht.

Allerdings fällt auf (siehe Abb.7 b), daß in 90% der myelomonocytären Fälle, in 87,5% der monomyelocytären Fälle, aber nur in 64,7% der monocytären Fälle eine Thrombocytopenie beobachtet wurde.

Im Durchschnitt waren bei Erwachsenen wie Kindern die absoluten Leukocytenzahlen stark erhöht bei regelmäßiger Granulocytopenie in Blut und Knochenmark. Die aufschlüsselnde Abb.8 jedoch zeigt, daß 28% der Fälle aleukämisch (Leukocyten: 0-6000/mm^3) waren, 3% im Normbereich lagen (Leukocyten: 6000-10 000/mm^3), und 69% der Fälle eine Leukocytose mit oberem Grenzwert von 17 500/mm^3 aufwiesen.

Der Anteil der leukämischen Zellen in Blut und Knochenmark lag bei den Erwachsenen bei ca 60%, bei Kindern (15 Jahre und jünger) ist der mittlere Prozentsatz mit 83% leukämischen Zellen im Knochenmark deutlich höher. Die Grenzwerte der leukämischen Zellen im Blut reichen von 14,5-100%, im Knochenmark von 19-93%. (Tab.3)

Die Erythrocytenvorstufen im Knochenmark waren bei allen Formen stark erniedrigt mit einer Streubreite von 1-34%.

Tab.3 Mittelwerte der Laborparameter in Blut und Knochenmark (Km) in der Gesamtheit und im Vergleich zwischen den Untergruppen der Monocytenleukämie.
(E=Erwachsene, K=Kinder 0-15 Jahre, leuk.Zellen= leukämische Zellen)

	Gesamtauswertung		Monocytär		Myelomonocytär		Monomyelocytär		Streubreite
	E	K	E	K	E	K	E	K	
Hb g/100 ml	9,3	9,4	9,1	10,7	9,2	9,1	9,7	7,4	5,1-15,5
Thrombocyten $10/mm^3$	74	42	88	75	59	18	64	15	0,14-462
Leukocyten $10/mm^3$	33	41	38	20	20	25	35	71	0,83-175
leuk. Zellen Blut %	61	56	65	59	61	46	52	58	14,5-100
leuk. Zellen Km %	63	83	63	82	62	77	65	89	19-93
Erythrocytenvorstufen Km %	12	9	14	9	10	13	10	5	1-34

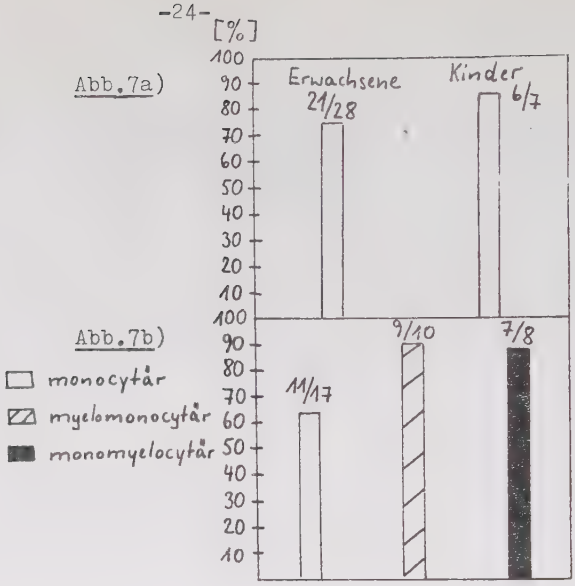

Abb.7 Häufigkeit von Thrombocytopenie (< 100 000/mm³) bei einer Gruppe von 35 Patienten

a)in Abhängigkeit vom Lebensalter
(E=Erwachsene,K=Kinder 0-15 Jahre)

b)in Abhängigkeit von der Einteilung in die Subtypen der Monocytenleukämie

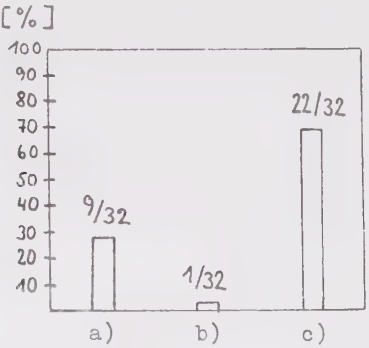

Abb.8 Verteilung der Leukocytenzahl bei 32 Patienten ohne Klassifizierung in die Subtypen

a) < 6000/mm³
b) 6000 - 10 000/mm³
c) > 10 000/mm³

3.3.Cytochemische und morphologische Befunde

3.3.1.Lichtmikroskopisch

Monocytäre Form

Cytochemie:

Die leukämischen Zellen der monocytären und promonocytären Form (n=25) unterscheiden sich in ihrer cytochemischen Anfärbbarkeit nicht von der normalen Monocytenpopulation.Sie zeigen alle hohen Gehalt an N-AS-E (+++,stark NaF hemmbar),sehr geringen an Peroxydase (+),deutliche Aktivität der sauren Phosphatase. Die PAS-Färbung reicht von negativ bis fein,bis mäßig granulär,bis regelmäßig diffus positiv.

Morphologie:

Morphologisch ließen sich die leukämischen Zellen eindeutig als Monocyten identifizieren:
polymorphe reife Zellen mittlerer Größe (2/3 der Fälle 12-15μ, 1/3 der Fälle 15-20μ,ein Fall mit einheitlich kleineren Zellen,ca 12μ),größtenteils große, stark gelappte und gebuchtete Kerne mit 0-3 kleinen Nukleoli und feinscholligem diffusen Chromatin,graublauem Cytoplasma,z.T. vereinzelt diffus azurophile Granula,unscharfe und unregelmäßige,ausgefranste Zellgrenzen häufig mit Ausstülpungen,1/3 der Fälle keine Vakuolenbildung,2/3 der Fälle z.T. stark vakuolisiert, z.T.mit wenigen kleinen,z.T. mit wenigen großen Vakuolen.

Myelomonocytäre Form

Cytochemie:

Die leukämischen Zellen der myelomonocytären Form (n=14) zeigen folgende Cytochemie:

ca 50% der Zellen N-AS-E ++ (stark NaF hemmbar) und POX negativ oder schwach positiv, 25-50% der Zellen POX ++ und N-AS-E negativ oder schwach positiv,PAS von fein bis mäßig granuliert positiv.Auffällig ist der hohe Gehalt an Saurer Phosphatase.

Morphologie:

Die Morphologie ließ ebenso wie die Cytochemie erkennen, daß bei dieser Form leukämische Zellen zweier verschiedener Zellpopulationen vorkommen.Es finden sich nämlich neben typischen Monocyten auch Zellen mit typischen Merkmalen der myeloischen Zellreihe.Diese scharf begrenzten, ovalen bis runden Zellen mittlerer Größe (12-20μ) haben rundliche Kerne mit 1-3 größeren Nukleoli und z.T. dichtem Chromatin.Das hell bis stark basophile Cytoplasma ist deutlich vakuolisiert.Die feine,z.T. aber auch große, in Gruppen angeordnete Granula ist Peroxydase positiv. In 3 von 14 Fällen werden im Cytoplasma Auerstäbchen gesehen.

Monomyelocytäre Form

Cytochemie:

Bei den leukämischen Zellen der monomyelocytären Form (n=10) ließ sich folgendes cytochemisches Verhalten feststellen:

alle Zellen N-AS-E ++ (nicht so stark NaF hemmbar wie bei der monocytären Form) und POX ++,hoher Gehalt an PAS und Saurer Phosphatase.

Morphologie:

Nicht nur cytochemisch,sondern auch morphologisch stehen die Zellen der monomyelocytären Form zwischen der monocytären und granulocytären Zellpopulation.Es sind reife Zellen von 12-20µGröße,die teils scharf begrenzt sind,teils auslaufende Zellgrenzen haben,mit teils gelappten,teils runden Kernen,z.T. feinscholligem Chromatin, z.T. dichtem, 1-3 Nukleoli,mittel bis stark basophilem Cytoplasma, z.T. kleiner diffuser, z.T. besonders starker zahlreicher Granula, in 2/3 der Fälle geringe bis starke Vakuolenbildung,in 1 Fall (n=1/10) Auerstäbchen.

Bei allen 3 Formen waren Thrombocyten,Erythrocyten und Granulocyten von morphologischen und cytochemischen Anomalien betroffen.Es konnten insgesamt in 6 Fällen z.T. Pelgerformen,POX Defekte der Neutrophilen und Mikromegakaryocyten gesehen werden.

3.3.2.Elektronenmikroskopische Feinstruktur

Bei 7 Fällen wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt.

Leukämische Monocyten gleichen in ihrer Feinstruktur grundsätzlich den entsprechenden normalen Zellen.Sie sind also gekennzeichnet durch große gelappte Kerne mit

randständiger Verdichtung des Chromatins und deutlichen Nukleolen.Im Cytoplasma finden sich kurze Ergastoplasmacisternen,zahlreiche kleine Granula, kleine Mitochondrien und viele Vesikel und Vakuolen. Oft enthalten die Zellen phagocytiertes Material.

Im Gegensatz zum normalen Monocyten bieten die leukämischen Monocyten folgende Anomalien in unterschiedlicher Ausprägung:
Besonders große Nukleolen und - im Verhältnis zum Cytoplasma - unreife Kerne;paranukleäre Fibrillenbündel,abnorm geformte Granula,besonders ausgedehnte oder mehrpolige Golgi-Zonen.(Abb.1)
Bei der monomyelocytären Mischform läßt sich im Cytoplasma ein Nebeneinander kleiner,für Monocyten typischer sowie großer,für Myelocyten und Promyelocyten typischer Granula beobachten.(Abb.2)

Die elektronenmikroskopische Darstellung der endogenen Myeloperoxydase erlaubt die Identifizierung früher Monocytenvorstufen.(Abb.3)
Im Gegensatz zu den großen Peroxydase-positiven Granula der Promyelocyten und Myelocyten finden wir bei Promonocyten peripher lokalisierte kleine Peroxydase-positive Granula (Abb.3).Bei diesen als Promonocyten und Monocyten zu identifizierenden Zellen findet sich Enzymaktivität niemals im Kernspalt,im Ergastoplasma oder in den Cisternen des Golgiapparates.

Ein Teil der Granula aller Reifestufen der monocytären Zellreihe weist Aktivität saurer Phosphatase auf. Diese ist häufig auch in den Cisternen des Golgiapparates, selten im Kernspalt und Ergastoplasma nachzuweisen.

Abb.1 Leukämischer Monocyt. Der tiefgebuchtete Kern zeigt nur einen schmalen Saum von Heterochromatin und 2 deutliche Nukleolen. Das Cytoplasma enthält eine Gruppe kleiner Granula, zahlreiche kurze Ergastoplasmalamellen und viele Vesikel, 2 Golgizonen.

Abb.2 Leukämischer Monocyt. Darstellung saurer Phosphatase. Die durch dieses Enzym verursachten bleihaltigen Präzipitate sind in einigen Granula und in Cisternen des Golgiapparates nachzuweisen.

Abb.3 Leukämischer Monocyt. Feinstrukturelle Darstellung endogener Peroxydase. Die Mehrzahl der in diesem Zellprofil erfaßten Granula zeigt Aktivität dieses Enzyms, zu erkennen an der dunklen Anfärbung.

Abb.4 Leukämische Zelle bei monomyelocytärer Leukämie. In diesem Ausschnitt finden sich kleine, wie für Monocyten typische und große, wie für Myelocyten kennzeichnende Granula.

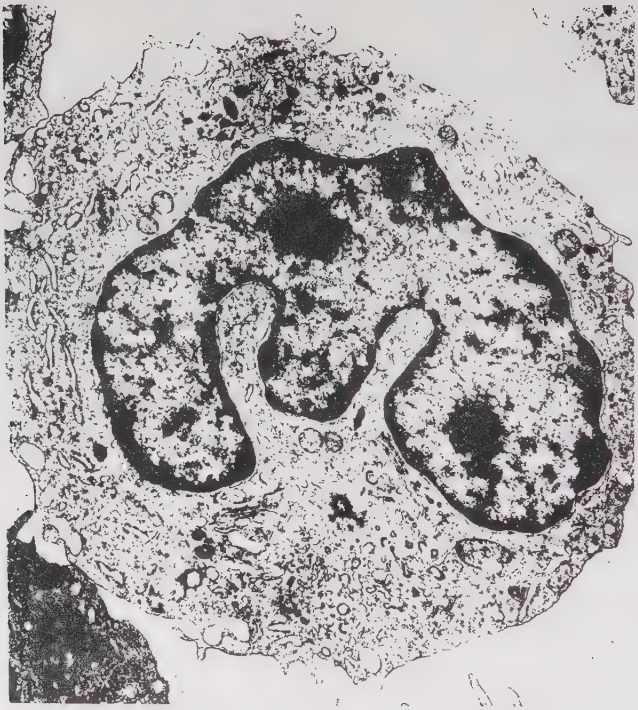

Abb.1

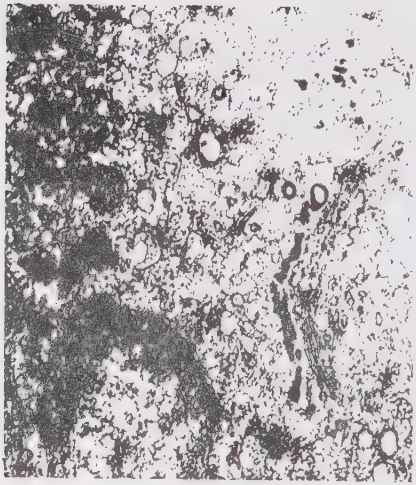

Abb.2

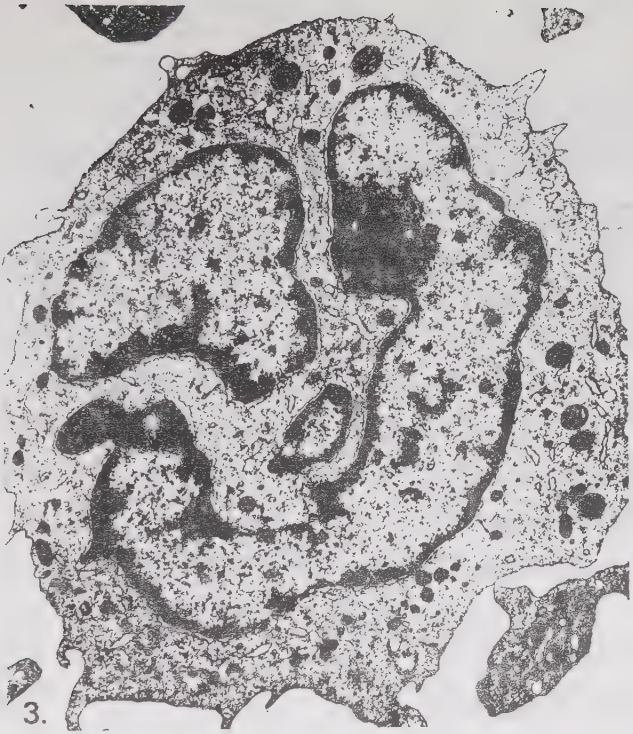

Abb.3

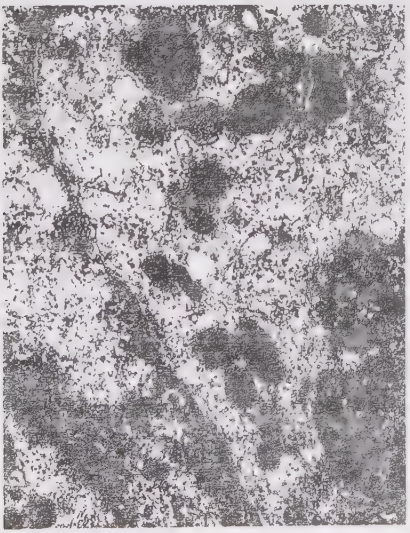

Abb.4

3.4. Krankheitsverlauf

Der Krankheitsverlauf von Diagnosestellung an war in den meisten Fällen foudroyant. In wenigen Fällen wurden Überlebenszeiten von 22-32 Monaten beobachtet. Im Durchschnitt lag die mittlere Überlebenszeit bei 12 Monaten, die Abbildungen 9 a), b), c) schlüsseln die Überlebenszeiten der verschiedenen Formen auf.

Die mittlere Überlebenszeit des monocytären Subtyps liegt bei 8,4 Monaten, des monomyelocytären bei 10,6 und des myelomonocytären bei 13,3 Monaten. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Der gesamte Vergleich der mittleren Überlebenszeiten in Abhängigkeit von Alter, initialer Thrombocyten-, Leukocyten- und peripherer Blastenzahl ergab folgendes: Bei den Patienten, die älter als 60 Jahre waren, war die mittlere Überlebenszeit mit 8,2 Monaten kürzer im Vergleich zu jüngeren Patienten (14,2 Monate). Auch bei initialer Leukocytenzahl $> 50\,000/mm^3$ im Blut verkürzte sich die mittlere Überlebenszeit mit 6,1 Monaten gegenüber 10,7 Monaten bei Leukocyten $< 50\,000/mm^3$. Bei initialer Thrombocytenzahl $< 30\,000/mm^3$ im Blut zeichnete sich mit 12,7 Monaten mittlerer Überlebenszeit gegenüber 11,8 Monaten bei Thrombocyten $> 30\,000/mm^3$, ebenso wie bei initialer peripherer Blastenzahl $> 75\%$ mit 8,7 Monaten gegenüber 8,6 Monaten bei Blastenzahl $< 75\%$ kein Unterschied ab.

Abb.9a)

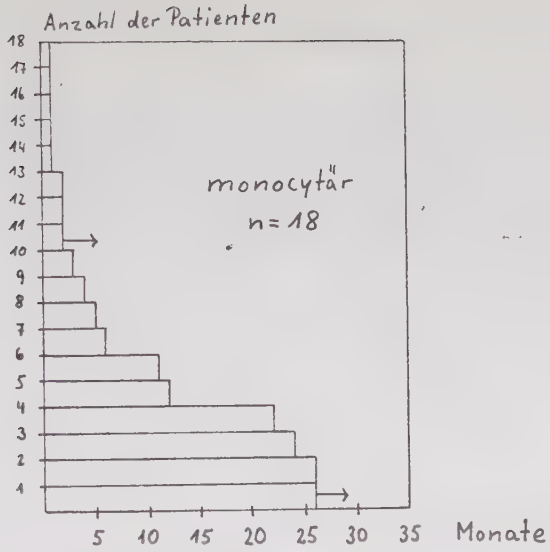

Abb.9b)

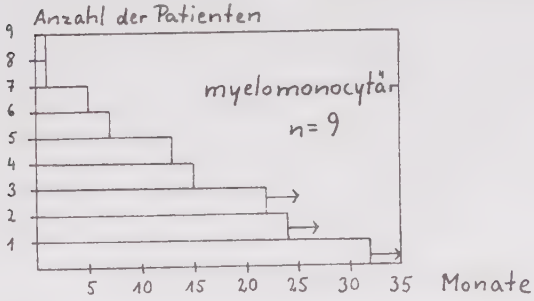

Abb.9c)

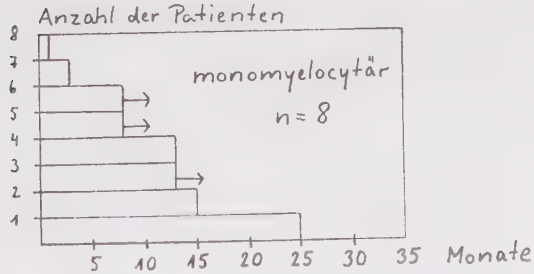

Abb.9 Überlebenszeit in Monaten vom Diagnosedatum ab bei der
a) monocytären (n=18)
b) myelomonocytären (n=9)
c) monomyelocytären Form (n=8) der Monocytenleukämie

Die Todesursachen waren laut Sektionsberichten hauptsächlich Infektionen und Blutungen, die Herz- und Kreislaufversagen nach sich zogen.

4.DISKUSSION

4.1.Herkunft der Monocyten

Die Herkunft der Monocyten war lange Zeit Thema von Diskussionen und Untersuchungen.Chervenick & Boggs, 1971,und Van Furth & Thompson,1971,entdeckten schließlich,daß Monocyten,Granulocyten,Erythrocyten und Thrombocyten eine gemeinsame Stammzelle haben,was durch andere Untersucher bestätigt wurde.(36)

Diese Stammzelle wird bei der Entstehung einer Leukämie geschädigt.So ist es erklärbar, daß bei den verschiedenen Formen der Leukämie oft nicht nur eine Zellreihe leukämisch entartet,sondern Mischformen vorkommen.Die frühe Schädigung einer Stammzelle bedingt auch,daß bei allen akuten myeloischen und monocytären Leukämien auch Thrombocyten und Erythrocyten Anomalien und Funktionsverluste aufweisen.

Osgoods Theorie,1969,ist also widerlegt,der glaubte,daß den Mischformen der Monocytenleukämie eine auf die Entartung der Monocyten hin reaktive Proliferation zugrunde läge.-Demnach wird die Herkunft der Monocyten und anderer Zellpopulationen von einer gemeinsamen Stammzelle sowohl durch die Beobachtungen von Misch-und Sonderformen der Monocytenleukämie (12,27,28,40),als auch durch die gleichzeitige Schädigung anderer Zellreihen gestützt.(12,17)

Von unseren 49 Fällen war die Hälfte den Mischformen der Monocytenleukämie zuzuordnen.Bei der myelomonocytären Form findet man leukämische Zellen sowohl der monocytären als auch der myeloischen Zellreihe.Die monomyelocytäre Form ist gekennzeichnet durch leukämische Zellen mit Merkmalen beider Zellreihen.Diese beiden Subtypen der Monocytenleukämie,die weder eindeutig der monocytären noch der myeloischen Zellreihe zugeordnet werden können,sind ein Beispiel,wie es durch Schädigung einer Stammzelle zur Entartung zweier Zellreihen kommen kann.

Zudem waren bei allen 3 Formen der Monocytenleukämie bei unseren Fällen noch andere Zellreihen,wie Thrombocyten,Erythrocyten und Granulocyten von morphologischen und cytochemischen Anomalien betroffen.Von Kleeberg wurden bei Leukämien zusätzlich metabolische und funktionelle Defekte dieser Zellreihen nachgewiesen.Er beschrieb Enzymdefekte bei Erythrocyten,Granulocyten und Megakaryocyten als Folge von endogenen Proteinsynthesestörungen.(20)

4.2.Klassifizierung der Monocytenleukämie

4.2.1.bezüglich Morphologie und Cytochemie

In der Literatur findet man die Unterscheidung zwischen monocytärer und myelomonocytärer Leukämie,die auf Löfflers "Esterase"-Typ und "Peroxydase-Esterase" Typ zurückgeht.(27)

Der "Esterase"-Typ stimmt mit der reinen Form der Monocytenleukämie überein,der "Peroxydase-Esterase" Typ mit der myelomonocytären Form,bei welcher Zellen mit starker Esterase-Aktivität neben Zellen mit starker Peroxydase-Aktivität gefunden werden.Starke Aktivität beider Enzyme in einer Zelle wurde von Löffler nicht beobachtet und definiert.

Miescher und Farquet,1974,(28),Geary et al,1975 (12), Zittoun,1976 (40),und Mende,1977 (27),verwenden den Begriff "myelomonocytär",der von Bennet,1971,stammt, für eine Form der Monocytenleukämie,bei der die leukämische Zellpopulation monocytäre und granulocytäre Vorläuferzellen enthält,und die Zellen sich aufgrund der Morphologie und Cytochemie in die monocytäre oder myelocytäre Zellreihe einordnen lassen.

Mende definiert den "Esterase"-Typ als "monoblastäre" Form mit 50% N-AS-E +++ und 25% POX + und den "Peroxydase-Esterase" Typ als myelomonocytäre Form mit 35% N-AS-E +++ und 50% POX + cytochemischerAktivität.(27) Diese beiden Formen wurden mit ähnlicher Definition in unserer Arbeit beschrieben: monocytäre Form (hoher Gehalt an N-AS-E,geringe Aktivität von Peroxydase) und myelomonocytäre Form (50% N-AS-E +++, 25-50% POX ++).

Die leukämischen Zellen von 10 Fällen zeigten sowohl starke Aktivität der N-AS-E als auch der POX,was zuerst von Schmalzl,1972,und Huhn,1971,beschrieben

werden konnte.(16,37) Diese Form wurde nach unserer Definition "monomyelocytär " genannt.

4.2.2.bezüglich der Verlaufsform

Wenn in dieser Arbeit von der monocytären,myelomonocytären und monomyelocytären Leukämie die Rede ist,so ist immer deren akute Verlaufsform gemeint.

In der Literatur werden aber auch Fälle mit "subakuter myelomonocytärer","chronischer myelomonocytärer" und "chronischer monocytärer" Leukämie beschrieben.(1,12,27,28,40)Diese Einteilung wird aufgrund des langsamen Verlaufs dieser Leukämien und der mäßigen Proliferation der leukämischen Zellen vorgenommen.

Mende definiert die "subakute myelomonocytäre" Leukämie mit einer Blastenzahl < 50% und Promonocytenzahl > 20% im Knochenmark und die chronische Form mit Blasten < 10% im Knochenmark.(27)Abbrederis et al setzt für die "chronische myelomonocytäre" Form das Fehlen von Blasten im peripheren Blut voraus,und Zittoun,1976, spricht von der "akuten myelomonocytären" Leukämie nur,wenn mehr als 40% leukämische Zellen im Knochenmark,eine Thrombocytopenie und rasch steigende Leukocytose beobachtet werden. (40)

4.3.Morphologie und Funktion der leukämischen Monocyten

4.3.1.Morphologie

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen und cytochemische Techniken konnte man in letzter Zeit in

einzelnen Fällen lichtmikroskopisch undifferenzierte Leukämien der Leukose vom monocytären Typ zuordnen.(13) Monoblast,Promonocyt,Myeloblast und Promyelocyt können durch morphologische und cytochemische Unterschiede ihrer Granula mit Hilfe des Elektronenmikroskops identifiziert werden.(9)

In unseren Fällen war die Diagnose Monocytenleukämie schon lichtmikroskopisch eindeutig.Es handelte sich durchwegs um reifere Formen der Monocytenleukämie,und die leukämischen Zellen wurden durch ihre Morphologie und Cytochemie als Monocyten identifiziert.

Im Vergleich zu normalen Monocyten konnten aber pathologisch veränderte Strukturen der Zellen gesehen werden. Die Zellen fielen durch ihre Größe,ihre Kerne durch starke Einbuchtungen auf.Es wurde eine Dissoziierung der nukleären und cytoplasmatischen Ausdifferenzierung festgestellt,eine Beobachtung,die bei leukämischen Zellen in anderen Untersuchungen bereits gemacht wurde.(13,36) Neben unreif erscheinenden Kernen mit einigen großen Nukleoli fand sich oft reifes Cytoplasma mit für Monocyten typischer kleiner Granulation.

Das Elektronenmikroskop ermöglicht zudem veränderte feinstrukturelle Merkmale der leukämischen Zellen aufzudecken,wie z.B. vermehrte Fibrillenbündel und abnorm figurierte Mitochondrien,Ergastoplasmaschläuche und Granula.(16)

Nach M.Bessis (18) sind die leukämischen Zellen neben der "anarchy of maturation" durch pathologische Zellorganellen,wie z.B. Auerstäbchen gekennzeichnet,die in 4 (n= 4/49) von unseren Fällen beobachtet wurden.

4.3.2.Funktion

Schmalzl et al studierte die Funktionen der leukämischen Monocyten im Vergleich zu normalen Monocyten.(36) Er konnte die Umwandlung der Monocyten in Makrophagen durch in vitro-Kulturen nachweisen,die Auswanderung ins Gewebe beobachtete er anhand von Hautfensterversuchen.Er fand heraus,daß die Transformierung der leukämischen Monocyten in Makrophagen zwar weniger ausgeprägt war als bei normalen Monocyten,aber die Auswanderung der leukämischen Monocyten ins Gewebe nicht eingeschränkt war.

Besonders bei den Fällen der reinen Monocytenleukämie wurden von uns häufig Hautinfiltrate und Gingivahyperplasie in der Anamnese gefunden,was die erhaltene Auswanderungsfähigkeit der leukämischen Monocyten bestätigt.Marshall et al ging 1972 der Pathogenese der bei Monocytenleukämien besonders häufigen Hautinfiltrate nach und vermutete eine Erklärung dafür nicht nur in der erhöhten Auswanderungsfähigkeit der Monocyten,sondern auch in der anhaltenden Zellvermehrung und einer verlängerten Lebenszeit.(24)

4.4.Symtome,Todesursache und Prognose

4.4.1.Symptome

Ob es nur von wissenschaftlichem Interesse und für

Therapiestudien wichtig ist,die Unterscheidung zwischen "monocytärer", "myelomonocytärer" und "monomyelocytärer" Leukose zu machen,kann noch nicht beurteilt werden. Unsere retrospektiv gemachten Beobachtungen zeigen ähnliche Symptomatik,Todesursache und Prognose der 3 Formen.

Die Symptome der Patienten,wie Schwäche,Müdigkeit und vermehrte Blutungsneigung lassen sich durch das Blutbild erklären.Es wurden nämlich in den meisten Fällen eine ausgeprägte Anämie und Thrombocytopenie beobachtet.Zu den quantitativen Einbußen an Erythrocyten,Thrombocyten und Granulocyten kommen noch die qualitativen in Form von Enzymdefekten.(28) Zusätzlich können bei den Leukämien Gerinnungsfaktoren vermindert sein (6), z.B. durch Infiltrate und Schädigung der Leber oder im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie.

Pochedly untersuchte 1977 die Frage des Zusammenhangs von Nervensystembeteiligung bei Leukämien.Er fand bei der Untersuchung von 209 Kindern mit akuter myeloischer Leukämie in 25% der Fälle ZNS Infiltrationen,die entweder ohne Symptome vorhanden waren oder zu Drucksteigerung und Blutungen führten,ohne daß leukämische Zellen im Liquor zu finden waren.(30) Seiner Studie gemäß kommt es zu intracerebralen Blutungen nur zusammen mit hohen Leukocytenzahlen im Blut,die subarachnoidale und subdurale Blutung ist immer mit Thrombocytopenie vergesellschaftet.-Von unseren 38 Fällen

war in 2 Fällen eine ZNS Beteiligung durch Liquorpunktion festgestellt und in 1 Fall eine Peronäuslähmung beobachtet worden.Zwei weitere Fälle zeigten Hemiparesen,die wahrscheinlich ebenfalls mit der leukämischen Grunderkrankung im Zusammenhang standen.

4.4.2.Todesursache

Als Todesursachen gehen aus den 7 vorliegenden Sektionsberichten Blutungen und Infektionen hervor,die sich teils durch die auch ohne Therapie schon gestörte Thrombo- und Granulocytopoese erklären lassen.So führt der 1971 von Davis beschriebene POX Defekt der Neutrophilen zu erhöhter Infektanfälligkeit.(10)

Letale Blutungen und letale Infektionen traten bei unseren Fällen gleich häufig auf,während die Studie des National Cancer Instituts in den USA (21) für die Jahre 1954-71 zeigte,daß bei akuten Leukämien letale Infektionen gegenüber Blutungen deutlich überwiegen.

4.4.3.Prognose

Insgesamt zeigte sich,daß die mittlere Überlebenszeit bei allen 3 Formen der Monocytenleukämie wenige Monate beträgt.Nach Begemann et al ist die Prognose für Patienten mit akuter Leukämie im höheren Alter (>60 Jahre),mit initialer niedriger Thrombocytenzahl (< 30 000/mm^3),mit hoher peripherer Blastenzahl (>75%) oder mit hoher initialer Leukocytenzahl (>50 000/mm^3) deutlich schlechter. (23,31) Bei unserem Patientengut bedingten hohes Alter

und hohe Leukocytenzahl eine ungünstige Prognose.

Der genaue Verlauf mit Beurteilung von Voll-und Teilremissionen im Zusammenhang mit verschiedenen Therapien konnte nicht ausgewertet werden.

Eine langdauernde Heilung kann durch Cytostatika bisher nicht erreicht werden,wenn sich auch für die verschiedenen Formen der akuten Leukämie,nämlich der lymphatischen,myeloischen und monocytären seit der Einführung des Aminopterins durch Faber (29) verschiedene cytostatische Behandlungsschemata herauskristallisiert haben.(8,11) Erwähnenswert sind bei der akuten monocytären Leukämie speziell die Erfolge mit VP 16-213 (19,29),womit nach M.Bessis in 50% der Fälle vorübergehende Vollremissionen erzielt werden.(8)

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 49 Patienten mit akuter Monocytenleukämie wurden retrospektiv klinische, morphologische und cytochemische Untersuchungen quantifiziert und ausgewertet.

Aufgrund unterschiedlicher Morphologie und Cytochemie konnten die Fälle verschiedenen Subtypen der Monocytenleukämie zugeordnet werden. Die FAB (französisch-amerikanisch-britische) Klassifikation von 1974 unterscheidet 2 Formen der Monocytenleukämie:

M4 = die Myelomonocytäre Leukämie und

M5 = die Monocytäre Leukämie.

25 unserer Fälle entsprachen dem Monocytären und 14 Patienten dem Myelomonocytären Typ. Eine Gruppe von 10 Patienten, die in die FAB-Klassifikation nicht eingeordnet werden konnte, wurde als Monomyelocytärer Subtyp bezeichnet.

Es wurde folgendermaßen definiert:

monocytäre Form: N-AS-E (+++, stark NaF-hemmbar), POX (+).
Die leukämischen Zellen entsprechen weitgehend der Morphologie und Cytochemie normaler Monocyten.

myelomonocytäre Form: 50% der leukämischen Zellen
N-AS-E (+++) und POX (o-+),
25-50% der leukämischen Zellen
POX (++) und N-AS-E (o-+).
Die leukämischen Zellen entsprechen z.T.

der Morphologie und Cytochemie der monocytären, z.T. der myeloischen Zellreihe.

monomyelocytäre Form: N-AS-E (++) und POX (++).
Die leukämischen Zellen haben morphologische und cytochemische Merkmale sowohl der monocytären als auch der myeloischen Zellreihe.

Die Einteilung in die verschiedenen Subtypen war bei unseren Fällen durch lichtmikroskopische cytochemische Untersuchungen eindeutig. Notwendig waren dafür der Nachweis, bzw. die Beurteilung der N-AS-E-(auch deren NaF-Hemmbarkeit) und POX-Aktivität der leukämischen Zellen.

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen konnte die celluläre Feinstruktur der leukämischen Zellen beschrieben werden. Es wurden eine Dissoziierung der nukleären und cytoplasmatischen Ausreifung und Anomalien der Zellorganellen beobachtet. Die Beurteilung der Feinstruktur der leukämischen Zellen ließ eine eindeutige Identifizierung der verschiedenen Subtypen zu, insbesondere der monomyelocytären Sonderform. Durch die Darstellung der Myeloperoxydase gelang es, auch frühe Monocytenvorstufen zu erkennen.

Die klinischen Untersuchungen sollten zeigen, ob den Subtypen der Monocytenleukämie verschiedene Krankheitsbilder entsprechen.

Als Symptome der Erkrankung an einer der 3 Formen der

Monocytenleukämie wurden Gewichtsverlust,Appetitlosigkeit, Blutungen und Gelenkschmerzen beobachtet,als klinische Befunde wurden in vielen Fällen Hepato-und Splenomegalie, Lymphknotenschwellungen,Hautinfiltrate und Gingivahyperplasie ermittelt.Die mittlere Überlebenszeit lag bei 12 Monaten,die Patienten verstarben an Blutungen oder Infektionen.Höheres Alter (> 60 Jahre) und initial hohe Leukocytenzahlen (> 50 000/mm^3) zu Beginn der Erkrankung gingen mit schlechter Prognose einher.

Symptome und Verlauf der Erkrankung differierten nicht bei den 3 Subtypen,und auch die Laborparameter in Blut und Knochenmark unterschieden sich nicht signifikant.

Dennoch sollte die Einteilung in die 3 Subtypen gemacht werden,um eine klare Klassifikation der Monocytenleukämie zu erreichen.

Prof.Dr.D.Huhn danke ich für die Überlassung des Themas,seine wertvollen Anregungen und Hilfe sowie die Beurteilung meiner Arbeit.

Fräulein Wochinger im Labor von Prof.Dr.D.Huhn danke ich für die freundliche Unterstützung beim Mikroskopieren.

LITERATUR

1.Abbrederis,K.,F.Schmalzl,H.Braunsteiner:
Subakute und chronische monocytäre Leukämie.
Med.Klin.74 (Nr.48) (1979)

2.Bainton,D.F.,and M.G.Farquhar:
Origin of granules in polymorphonuclear leukocytes.
Two types derived from opposite faces of the Golgi complex in developing granulocytes.
J.Cell Biol.28,277 (1966)

3.Bainton,D.F.,and M.G.Farquhar:
Differences in enzyme content of azurophil and specific granules of polymorphonuclear leukocytes.
II.Cytochemistry and electron microscopy of bone marrow cells.
J.Cell Biol.39,299 (1968)

4.Barka,T.,and P.J.Anderson:
Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler.
J.Histochem.Cytochem.10,741 (1962)

5.Barka,T.,and P.J.Anderson:
Histochemistry.Theory,Practice,and Bibliography.
Harper & Row Publ.Inc.,New York-Evanston-London 1965

6.Begemann,H.:
Praktische Hämatologie.Differentialdiagnose,Therapie, Methodik.
G.Thieme Verlag Stuttgart,7.Auflage.36 (1977)

7.Bennett,J.M.,Catovsky,D.,Daniel,M.-T.,Flandrin,G., Galton,D.A.G.,Gralnick,H.R.,and Sultan,C.:
Proposals for the classification of the acute leukaemias.
Brit.J.Haemat.33,451-458 (1976)

8.Bessis,M. and G.Brecher:
Unclassifiable Leukemias.
Springer Verlag.Berlin-Heidelberg-New York.(1975)

9.O'Brien,M.,Catovsky,D.,Costello,C.:
Ultrastructural cytochemistry of leukaemic cells:
Characterization of the early small granules of
monoblasts.
British Journal of Haematology,45,201-208 (1980)

10.Davis,T.,M.D.,R.D.Brunning,M.D.,P.G.Quie,M.D.:
Polymorphonuclear Leukocyte,Myeloperoxidase Deficiency
in a Patient with Myelomonocytic Leukemia.
New England Journal of Medicin.789 (1971)

11.Ernst,P.:
Cytokinetics and Chemotherapy of human acute Leukemia.
Diss.ext.Kopenhagen.14-15 (1976)

12.Geary,C.G.,D.Catovsky,D.Wiltshaw,G.R.Milner,M.C.Scholes,
S.van Noorden,L.D.Wadsworth,S.Muldal,J.E.Maclever,D.A.G.
Galton:
Chronic Myelomonocytic Leukemia.
British Journal of Hematology 30,296-298 (1975)

13.Glick,A.D.,Horn,R.G.:
Identification of Promonocytes and Monocytoid Precursors
in Acute Leukemia of Adults:
Ultrastructural and Cytochemical Observations.
British Journal of Hematology 26,401-402 (1974)

14.Huhn,D.:
Die Feinstruktur des Knochenmarks der Ratte bei Anwendung
neuerer Aldehydfixationen.
Blut 13,291 (1966)

15.Huhn,D.,W.Stich:
Fine structure of blood and bone marrow.An introduction
to electron microscopic hematology.
J.F.Lehmanns Verlag,München (1969)

16.Huhn,D.,F.Schmalzl,K.Demmler:
Monocytenleukämie.
Deut.Med.Wochenschrift (Nr.41) 5 (1971)

17.Huhn,D.,F.Schmalzl:
Monocytenleukämie - elektronenmikroskopische und cytochemische Befunde.
Leukämie-Sonderdruck.39 (1972)

18.Karnovsky,M.J.:
The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxydase as a tracer.
J.Cell Biol.35,213 (1967)

19.Mc Kenna,R.W.,C.D.Bloomfield,F.Dick,M.E.Nesbit,R.D. Brunning:
Acute Monoblastic Leukemia: Diagnosis and Treatment of Ten Cases.
Blood Vol 46,493 (1975)

20.Kleeberg,U.R.:
Metabolische und funktionelle Defekte peripherer Blutzellen bei der Leukämie.
J.F.Lehmanns Verlag München 140-143 (1976)

21.Kühn,R.A.,K.Abendroth,H.Siering,K.Ruffert:
Akute Leukoseprobleme.
Jena - Manuskript,12+43 (1978)

22.Linder,A.:
Statistische Methoden.
Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart 51-52 (1964)

23.Love,R.,W.Kaboth:
Remissionsquote und Überlebenszeit bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie.
Eine Literaturübersicht aus den Jahren 1970-75.
Med.Klin.72 (1977)

24.Löffler,H.:
Cytochemischer Nachweis von unspezifischer Esterase in Ausstrichen.Beiträge zur Technik und Ergebnisse im Blutausstrich des Menschen.
Klin.Wschr.39,1220 (1961)

25.Mathe,G.,P.Pouillart,L.Schwarzenberg:
Recent Results in Cancer Research.Nomenclature, Methodology and Results of Clinical Trials in Acute Leukemias.
Berlin-Heidelberg-New York.Springer Verlag 65 (1973)

26.Mayntz,R.u.a.:
Einführung i.d. Methoden d.empirischen Soziologie.
Opladen (4.Auflage),56 ff (1974)

27.Mende,S.,H.Fülle,A.Knuth,I.Weißenfels:
Myelomonocytäre Leukämie:Klinische,cytologische und cytogenetische Studien bei akuten,subakuten und chronischen Verlaufsformen.
Blut,35,23+30 (1977)

28.Miescher,P.A.,J.J.Farquet:
Chronic Myelomonocytic Leukemia in Adults.
Seminars in Hematology,Vol 11,129 (1974)

29.Necheles,T.M.D.:
Acute Leukemias.
New York Thieme Verlag,1+106 (1979)

30.Pochedly,C.,M.D.:
Leukemia and Lymphoma in the Nervous System.
Springfield,Illinois,USA. 5 (1977)

31.Rastetter,J.,H.Begemann,U.Fink,W.Strehle:
Retrospektive Study of 180 Cases with Acute Leukemia.
14.Congr.Intern.Soc.Hematol. (1972)

32.Reynolds,E.S.:
The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J.Cell.Biol.17,208 (1963)

33.Van der Rhee,H.J.:
Blood Monocytes.
Leiden Springer Verlag, 1 (1979)

34.Sabatini,D.D.,K.Beusch,and R.J.Barrnett:
Cytochemistry and electron microscopy.The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.
J.Cell Biol.17,19 (1963)

35.Schaefer,H.E.and R.Fischer:
Der Peroxidasenachweis an Ausstrichpräparaten sowie an Gewebsschnitten nach Entkalkung und Paraffineinbettung.
Klin.Wschr.46,1228 (1968)

36.Schmalzl,F.,H.Braunsteiner:
Zur Cytochemie der Monocytenleukämie.
Klinische Wschr 22.Heft,1192+1193 (1968)

37.Schmalzl,F.,D.Huhn,H.Asamer,K.Abbrederis,H.Braunsteiner:
Atypical Myelogenous Leukemia.
Acta Haemat.48,77 (1972)

38.Spurlock,B.O.,V.C.Kattine,J.A.Freeman:
Technical modifications in maraglas embedding.
J.Cell.Biol.17,203 (1963)

39.Van Waarde,D.:
Humoral Regulation of Monocytopoesis.
Leiden Diss.ext., 97 (1976)

40.Zittoun,R.:
Subacute and chronic myelomonocytic leukemia:
A distinct Haematology Entity.
British Journal of Haematology 32,1+5 (1976)

LEBENSLAUF

Am 26.1.1957 wurde ich,Liane Twardzik,als zweite Tochter des Zahnarztes Dr.Dr.Hans Twardzik und seiner Ehefrau Johanna Twardzik,geb.Herbinger, in München geboren.

1963 - 1967 besuchte ich die "Volksschule an der Böglstraße" in Altperlach in München.

1967 - 1976 erhielt ich meine Schulausbildung im Neusprachlichen Zweig am "Gymnasium der Armen Schulschwestern" in München.

1976 legte ich im Sommer meine Reifeprüfung ab, wobei mein besonderes Interesse den Fächern Latein und Mathematik galt.
Durch meinen Vater und Großvater wurde ich früh mit dem ärztlichen Beruf konfrontiert. Da mein Vater zusätzlich in Humanmedizin promoviert hatte,bestärkte er mich,auch Humanmedizin zu studieren.
Ich konnte einen Studienplatz an der Ludwig-Maximilians-Universität in München bekommen und absolvierte

1976 - 1978 den vorklinischen Teil,abschließend mit dem Physikum.

1979 folgte der 1.Teil des Staatsexamens,

1981 der 2.Teil.

Im 1.Drittel des Praktischen Jahres war ich bei Prof. Betke in der Haunerschen Kinderklinik; die Pädiatrie hatte ich als mein freies Fach gewählt.

Im 2.Drittel war ich in der Inneren Abteilung der Klinik Neuperlach bei Prof.Dieterle (Endokrinologie).

Den 3.Teil absolvierte ich in der Chirurgie Augsburg bei Prof.Rüter.

Das Studium schloß ich am

15.11.1982 mit dem 3.Teil des Staatsexamens ab,

und erhielt am

19.11.1982 meine Approbation.

Während meines Studiums wurde ich durch die Kurse von Prof.Paal im Harlachinger Krankenhaus und von Prof.Förster in der Haunerschen Kinderklinik in besonderem Maße zur Neurologie angeregt,habe mich aber auch gerne mit Hämatologie und Kinderheilkunde beschäftigt.